Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Article
Vol. 15, No.4, 2023, p. 529-546

Effect of Wet Litter Biochar, Probiotic and Zeolite on Performance, immunity and Small Meat Quality of Broiler Chickens Reared under Cold Stress

Shokoufeh Hasanvand[1], Ali Khatibjoo[2*], Hassan Shirzadi[3], Yahya Mohammadi[2], Mohammad-Amir Karimi-Torshizi[4], Derakhshandeh Rahimi[5]

1- Ph.D Candidate in Poultry Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture. Ilam University, Ilam, Iran.
4- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran.
3- Assistant Prof., Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran.
4- Associate Prof. of Poultry Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran.
5- Assistant Professor, Animal Science Research Department, Ilam Agriculture and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Ilam, Iran.
*Corresponding Author's Email: a.khatibjoo@ilam.ac.ir

Received: 23-02-2023
Revised: 25-06-2023
Accepted: 10-07-2023
Available Online: 10-07-2023

How to cite this article:
Hasanvand, S., Khatibjoo, A., Shirzadi, H., Mohammadi, Y., Karimi-Torshizi, M. A., & Rahimi, D. (2023). Effect of wet litter biochar, probiotic and zeolite on performance, immunity and small meat quality of broiler chickens reared under cold stress. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *15*(4), 529-546. (in Persian with English abstract)
https://doi.org/10.22067/ijasr.2023.81245.1130

Introduction: During the winter months in most parts of Iran, the external temperature often drops below 0 °C. Typically, these temperatures fall below the optimal conditions for chick growth, resulting in cold stress and potential diseases. This can subsequently impact meat quality negatively and reduce breeding efficiency. The environmental temperature beyond the upper and lower limit of the thermoneutral zone is supposed to produce heat or cold stress in animals (Meltzer, 1983). The adverse climatic condition produces physiological stress which has profound economic influence on the productive efficiency including health and disease resistant capacity (Phuong et al., 2016). Exposure of poultry birds to extreme temperature stressor modulates the immune responsiveness and hematic-biochemical parameters of birds (Hangalapura et al., 2004). Among all the environmental stressors, cold stress induces physiological responses which are of high priority and energy demanding for homeotherms. Cold temperature can increase ascites susceptibility by increasing both metabolic oxygen requirements and pulmonary hypertension (Stolz et al., 1992). The biggest obstacle in raising broilers at high altitudes and cold conditions is the ascites syndrome. This condition can be characterized by an accumulation of fluid in the abdominal cavity and elevated mortality that tends to peak between 4-6 weeks of age (James, 2005). The International Biochar Initiative (2017) defines biochar as, “Solid material obtained from thermochemical conversion of biomass in an oxygenlimited environment.” Biochar is an ash substance that is produced from the burning of biological material via pyrolysis. This process heats the biological material in an anaerobic environment causing it to decompose into an ash form. Growth promotion and therapeutic antibiotics have been used to compensate for the high levels of stress, including cold stress,that can be present in intensive animal production. Stress can lower resistance to many of the microorganisms present in the environment; however, stress in general has been reported to have variable effects on the immune system and can both enhance and suppress responses (Siegel, 1995); cold stress has been shown to both stimulate and suppress chickens’ immune response (Regnier and Kelley, 1981; Hangalapura et al., 2006). Probiotics contain live microorganisms and spores which when administered in adequate amount, confer health benefits to the host.

https://doi.org/10.22067/ijasr.2023.81245.1130

Bacillus subtilis (B. Subtilis) and Bacillus licheniformis (B. Licheniformis) are the two most widely used strains of probiotic bacteria in animal diets. Oral administration of B. Subtilis and B. Licheniformis can have a myriad of beneficial effects, such as improved growth and meat characteristics, optimized composition of intestinal microbiota, prevention of some diarrheal diseases, and reduced stresses. For such benefits, B. Subtilis and B. Licheniformis have attracted considerable attention as a potentially beneficial dietary supplement for animal health. For the many negative effects of antibiotic drugs used in chick production, we want to compare the positive effects of some additives on performance of cold-stressed broiler chickens.

Materials and Methods: In this experiment, in order to examine the effect of solid waste biochar, probiotic and zeolite on improvement of performance, blood indices and small intestine morphology of broiler chickens reared under cold stress, in a completely randomized design, 315 Ross-308 broiler chickens (as hatched) were allocated to 7 treatments, 5 replicates and 9 birds in each in cold and warm houses. Treatments are including: 1) positive control (basal diet in recommended temperature), 2) negative control (basal diet + cold stress), 3-7) negative control + %0.5, %0.75 and 1% solid waste biochar, 0.02% probiotic Ecobacto-P and 1% zeolite, respectively. In cold stress groups, house temperature decreased to 17° C from 7d until end of the experiment (42d).

Results and Discussion: As compared to group reared in warm house, cold stress significantly decreased broiler chickens daily FI and BWG, serum total protein, albumin and globulin concentrations, thymus relative weight, lymphocyte percentage, breast and thigh meat pH, breast meat redness (b) and thigh meat yellowness (a) while increased total and ascitic mortality, red and white blood cell count, blood hemoglobin, heterophile percentage and heterophil to lymphocyte ratio, antibody titter against SRBC, breast and thigh meat whiteness and breast meat MDA concentration ($P < 0.05$).

Conclusion: In order to orthogonal contrast analysis between negative control group and additive groups, solid waste biochar, probiotic or zeolite couldn’t improve broiler chicken’s growth performance, breast and thigh meat quality parameters, blood metabolites concentration and cell count and did not ameliorate negative effects of cold stress.

Keywords: Broiler Chicken, Cold Stress, Immune Response, Meat Quality, Performance, Probiotic, Solid Waste Biochar

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۱۵، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۲، ص. ۵۴۶-۵۲۹

اثر بیوچار پسماند تر شهری، پروبیوتیک و زئولیت بر بهبود عملکرد، ایمنی و کیفیت گوشت جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی

شکوفه حسنوند [۱]، علی خطیب جو [۲]*، حسن شیرزادی [۳]، یحیی محمدی [۲]، محمد امیر کریمی ترشیزی [۴]، درخشنده رحیمی [۵]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۰۴
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۱۹

چکیده

در این آزمایش، به‌منظور بررسی اثر بیوچار پسماند تر بر بهبود عملکرد و مورفولوژی روده جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی، ۳۵۰ قطعه جوجه گوشتی راس-۳۰۸ (مخلوط دو جنس با نسبت مساوی نر و ماده) در قالب طرح کاملاً تصادفی به هفت تیمار، پنج تکرار و ۱۰ جوجه در هر تکرار اختصاص یافتند. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) جیره شاهد مثبت (دمای توصیه شده)، ۲) جیره شاهد منفی (جیره پایه؛ تنش سرمایی)، ۳ تا ۷) به‌ترتیب جیره شاهد منفی + ۰/۵، ۰/۷۵ و یک درصد بیوچار پسماند تر، ۰/۰۲٪ پروبیوتیک اکوباکتو- پی (Ecobacto-P) و یک درصد زئولیت بودند. در گروه تنش سرمایی، از ابتدای هفته دوم تا انتهای آزمایش (۴۲ روزگی) دمای سالن به ۱۷ درجه سانتی‌گراد کاهش داده شد. نسبت به گروه شاهد پرورش یافته در شرایط دمایی نرمال، تنش سرمایی منجر به کاهش خوراک مصرفی و کاهش افزایش وزن روزانه و افزایش تلفات کل و آسیتی شد. همچنین، سبب کاهش غلظت پروتئین کل، گلوبولین و آلبومین سرم خون و درصد لنفوسیت و افزایش شمار گلبول سفید خون، هموگلوبین، درصد هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت، عیار آنتی‌بادی علیه SRBC شد. تنش سرمایی وزن نسبی تیموس، pH گوشت ران و سینه، قرمزی گوشت سینه و زردی گوشت ران را کاهش و میزان روشنایی گوشت ران و سینه و غلظت مالون‌دی‌آلدهید گوشت سینه را افزایش داد ($P< 0.05$). با توجه به مقایسات گروهی بین گروه شاهد پرورش یافته در شرایط تنش سرمایی و گروه‌های دریافت‌کننده افزودنی‌ها، پروبیوتیک، بیوچار و زئولیت قادر به بهبود عملکرد رشد در کل دوره، کیفیت گوشت سینه و ران، غلظت متابولیت‌ها و شمار سلول‌های خونی نشدند و در شرایط این آزمایش نتوانستند اثرات منفی تنش سرمایی جبران کنند.

واژه‌های کلیدی: بیوچار، پاسخ ایمنی، پروبیوتیک، تنش سرمایی، جوجه گوشتی، عملکرد، کیفیت گوشت

مقدمه

استفاده از پروبیوتیک‌ها به‌عنوان محرک رشد و جایگزین آنتی‌بیوتیک در جیره جوجه‌های گوشتی مانع از رشد باکتری‌های مضر روده (از جمله *اشریشیاکلی*) در دستگاه گوارش شده و سبب بهبود سلامتی میزبان می‌شود (Nawaz et al., 2021). همچنین، افزودن پروبیوتیک‌ها به جیره منجر به افزایش مقاومت در برابر پاتوژن‌ها، سنتز مواد آنتی‌اکسیدانی و ضد باکتریایی، تحریک ایمنی موضعی، تعدیل پاسخ التهابی (Montalto et al., 2004)، بهبود عملکرد ایمنی جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی، کاهش آسیب به مخاط روده کوچک و افزایش جذب مواد مغذی می‌شود (Qi et al., 2018). اتصالات محکم بین سلول‌های انتروسیت ساختارهای کلیدی در نفوذپذیری مخاط روده هستند و تغییر در نفوذپذیری روده به آسیب اتصالات محکم مربوط می‌شود. پروبیوتیک‌ها ارتباط کامل و یکپارچه

۱- دانشجوی دکتری تغذیه طیور گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.
۲- دانشیار ،گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.
۳- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.
۴- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشگاه تربیت مدرس تهران، تهران، ایران.
۵- استادیار بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان ایلام، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ایلام، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: a.khatibjoo@ilam.ac.ir)
https://doi.org/10.22067/ijasr.2023.81245.1130

بین سلول‌های اپیتلیال روده را در طول عفونت افزایش می‌دهند (Montalto et al., 2004).

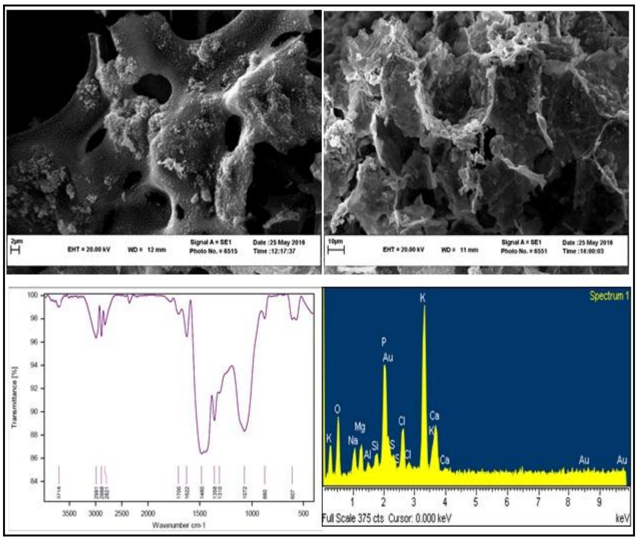
زئولیت‌ها، آلومینوسیلیکات‌های کریستالی و هیدراته از کاتیون های قلیایی و قلیایی خاکی هستند که ساختار سه‌بعدی نامحدودی دارند. زئولیت‌ها توانایی مبادله انتخابی انواع کاتیون‌ها در ساختار خود بدون تغییر عمده در ساختار خود را دارا هستند و قادرند سمیت ناشی از سموم را کاهش دهند. امروزه به‌منظور پالایش و حذف سموم از اصلاح کننده‌های آلی دوستدار محیط زیست نیز بهره برده می‌شود (Kim et al., 2015; Meier et al., 2012). یکی از این اصلاح کننده‌های آلی، بیوچارها هستند که از سوختن منابع آلی در دماهای بین ۴۰۰ تا ۷۰۰ درجه سانتی‌گراد و در غیاب یا حضور اکسیژن کم، تولید می‌شوند (Lehmann et al., 2011). بیوچار، زغال و زغال فعال ویژگی‌های مشابهی دارند، به‌طوری‌که همه آن‌ها از مواد غنی از کربن آلی و در شرایط پیرولیز (حضور بسیار کم اکسیژن) تولید شده‌اند. بیوچار در واقع فرم پیش‌ساز زغال فعال است (Azargohar & Dalai, 2006) که در فرایند سم‌زدایی و خارج کردن سموم از بدن حیوانات و بهبود جمعیت میکروبی دستگاه گوارش کاربرد دارد (Sanchez-Monedero et al., 2018). بیوچار یک ماده متخلخل است که شباهت زیادی به زغال فعال دارد و ویژگی‌های فیزیکو- شیمیایی آن مانند قطر، اندازه، سطح ویژه کل منافذ و مقدار مواد غذایی به شرایط سوختن آن و نوع ماده خام اولیه بستگی دارد و می‌تواند فلزات سنگین را با جذب سطحی روی سطوح خودش غیرفعال سازد (Joseph et al., 2010; Rajapaksha et al., 2015).

تنش سرمایی موجب افزایش نیاز به انرژی و متعاقباً افزایش خوراک مصرفی طیور می‌شود (Ferket & Blahova et al., 2007 ; Gernat, 2006). همچنین در اثر تنش سرمایی، تغییراتی در دستگاه گوارش از قبیل تغییر یا افزایش جمعیت باکتری‌های مضر دستگاه گوارش از جمله *اشریشیاکلی* (Huff et al., 2007; Huff et al., 2015) و شل شدن اتصالات محکم بین سلول‌های انتروسیت و افزایش نفوذپذیری باکتری‌ها به جریان خون به‌وجود می‌آید که در نتیجه، سبب بروز عفونت و التهاب در بافت‌های بدن می‌شود. (Adjei et al., 1994; Zhou et al., 2021). وقوع همزمان افزایش تولید توکسین باکتریایی و افزایش فاصله بین انتروسیت‌ها می‌تواند منجر به بروز آنتریت و التهاب روده و افزایش تلفات جوجه‌های گوشتی شود. بنابراین، افزودن پروبیوتیک‌ها به‌عنوان تعدیل‌کننده جمعیت باکتریایی دستگاه گوارش می‌تواند به‌عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌ها به منظور محافظت از جوجه‌های جوان در برابر تنش سرمایی و عفونت های باکتریایی عمل کند (Huff et al., 2015). بین جایگزین‌های بی‌خطر آنتی‌بیوتیک‌ها، تاکنون در زمینه تأثیر بیوچار حاصل از پسماند تر بر ممانعت از رشد قارچ‌ها و باکتری‌ها و جذب توکسین آن‌ها تحقیقی انجام نشده است. تنش سرمایی منجر به تغییر جمعیت باکتریایی و افزایش نیاز به اکسیژن در دستگاه گوارش می‌شود. در این آزمایش، فرض بر این است که افزودن بیوچار پسماند تر محصولات کشاورزی به جیره جوجه‌های گوشتی می‌تواند با جذب سموم باکتریایی و کاهش اثرگذاری توکسین باکتری‌ها بر دستگاه گوارش سبب کاهش نیاز به اکسیژن و کاهش بروز آسیت و مرگ و میر جوجه‌ها و بهبود عملکرد جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش سرمایی شود. این تحقیق، به‌منظور بررسی اثر سطوح مختلف بیوچار بر بهبود عملکرد و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش سرمایی و مقایسه آن با پروبیوتیک و زئولیت انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در زمستان سال ۱۳۹۹ در مرغداری تحقیقاتی دانشگاه ایلام در دو سالن مجزا (سالن سرد و سالن با دمای مطابق توصیه سویه راس-۳۰۸) انجام شد. ابعاد سالن با دمای توصیه شده ۴×۴ متر و ابعاد سالن سرد ۷×۷ مترمربع و فاصله این دو سالن از همدیگر ۱۰۰ متر بود. تعداد ۳۵۰ قطعه جوجه گوشتی سویه راس-۳۰۸ (مخلوط دو جنس) به نسبت مساوی نر و بود. ماده با میانگین وزنی ۳۸/۵ گرم (سن مرغ مادر ۳۹ هفته)، به‌طور تصادفی در ۳۵ پن آزمایشی (دارای ابعاد ۱ در ۱/۱ متر) به هفت تیمار، پنج تکرار و ۱۰ قطعه پرنده در هر تکرار اختصاص داده شدند و تا پایان سن ۴۲ روزگی با سه جیره مختلف مطابق توصیه‌های سویه راس-۳۰۸ تغذیه شدند. در سالن گرم، ۵۰ جوجه در پنج پن آزمایشی با ابعاد ۱ در ۱/۱ متر و در سالن سرد ۳۰ پن آزمایشی با ابعاد ۱ در ۱/۱ متر وجود داشت. دمای سالن مطابق توصیه شده سویه راس-۳۰۸ در هنگام ورود جوجه‌ها به سالن، ۳۲ درجه سانتی‌گراد بود و در هفته‌های بعد طبق توصیه راهنمای پرورش سویه راس سال ۲۰۱۹ تنظیم شد. دمای سالن سرد در هفته اول ۳۲ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. به منظور اعمال تنش سرمایی، از ابتدای هفته دوم دمای سالن به یکباره از ۲۹ درجه سانتی‌گراد به ۱۷ درجه سانتی‌گراد کاهش داده شد و تا آخر دوره پرورش (۴۲ روزگی) در همین دما باقی ماند (Varmaghany *et al.*, 2015). میزان روشنایی برای هر دو سالن، در سه روز ابتدایی دوره پرورش ۲۴ ساعت و پس از آن تا انتهای دوره پرورش ۲۳ ساعت بود و میزان رطوبت سالن در محدوده ۵۵-۵۰ درصد حفظ شد. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: ۱) جیره شاهد مثبت (بدون افزودنی) و پرورش در سالن با دمای توصیه شده سویه راس-۳۰۸، ۲) جیره شاهد منفی (بدون افزودنی) و تحت تنش سرمایی، ۳ تا ۵) به‌ترتیب جیره شاهد منفی + ۰/۵، ۰/۷۵ و یک درصد بیوچار پسماند تر و ۶ و ۷) به‌ترتیب جیره شاهد منفی + ۰/۰۲٪ پروبیوتیک اکوباکتو- پی (Ecobacto-P) یا یک درصد زئولیت. جیره‌های آزمایشی بر پایه ذرت- سویا و توسط نرم‌افزار جیره‌نویسی

UFFDA تنظیم شدند. مواد خوراکی تشکیل‌دهنده و ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ آورده شده است. افزودنی‌های خوراکی بعد از آماده‌سازی جیره پایه، به آن اضافه شدند و همه جوجه‌ها در طول آزمایش به جیره و آب دسترسی آزاد داشتند. به‌منظور تهیه بیوچار ابتدا، پسماند شهری از محل جمع‌آوری زباله شهری تهیه و بخش‌های خشک آن جدا شده و بخش تر زباله شامل بقایای میوه‌ها، سبزیجات و پسماند غذائی پس از خشک کردن در دمای اتاق، در آزمایشگاه خاکشناسی دانشگاه ایلام با استفاده از گرماکافت در دمای ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد و در بازه زمانی دو ساعت در شرایط اکسیژن محدود تولید شد و به‌منظور بررسی قابلیت جذب توکسین‌های قارچی، برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن اندازه‌گیری شد.



شکل ۱- تصویر الکترونی و طیف بیوچار تولیدی از پسماندتر

Figure 1- Electronic image and spectrum of produced solid waste biochar

وزن بدن، افزایش وزن بدن، خوراک مصرفی، درصد تلفات کل و آسیتی (بر اساس مشاهده آب آوردگی شکم و شاخص وزن بطن راست به کل وزن بطن‌ها) (Varmaghany *et al*., 2015) و شاخص بازده تولید اروپایی جوجه‌ها در پایان هر دوره (آغازین، رشد و پایانی) اندازه‌گیری شد. ضریب تبدیل خوراک تصحیح شده بر اساس تلفات کل محاسبه گردید و در پایان آزمایش نیز فاکتور تولید بازده اروپایی با استفاده از معادله ۱ محاسبه شد.

معادله (۱)

شاخص بازده تولید اروپایی =

{ ۱۰× (ضریب تبدیل خوراک × سن فروش) ÷ (وزن زنده × درصد ماندگاری)}

در سن ۴۰ روزگی، دو جوجه نر و ماده از هر تکرار انتخاب و از سیاهرگ زیر بال آن‌ها دو نمونه خون گرفته شد. بعد از تهیه نمونه سرم از خون‌های گرفته شده، یک نمونه برای اندازه‌گیری غلظت متابولیت‌های خونی (پروتئین کل، گلوبولین و آلبومین) با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون و نمونه خون دیگر برای شمارش تعداد کل گلبول‌های سفید و قرمز، هتروفیل، لنفوسیت و محاسبه نسبت هتروفیل به لنفوسیت (با استفاده از دستگاه سل‌کانتر) اختصاص داده شد (Nazifi, 1997).

واکسیناسیون علیه نیوکاسل و آنفلوآنزا در روز ۷ به‌روش تزریق زیرپوستی و در روز ۱۲ علیه نیوکاسل به‌روش خوراکی انجام گرفت. تیترآنتی‌بادی علیه بیماری نیوکاسل و آنفلوانزا، ۲۰ روز پس از آخرین واکسیناسیون، با روش هماگلوتیناسیون (HI) اندازه‌گیری شد. برای بررسی پاسخ ایمنی هومورال اولیه و ثانویه علیه گلبول قرمز خون گوسفندی (SRBC) در روزهای ۲۸ و ۳۵ دوره پرورش به دو پرنده از هر تکرار میزان ۰/۵ میلی‌لیتر گلبول قرمز خون گوسفندی ۲/۵ درصد در عضله سینه هر پرنده تزریق شد. سپس هفت روز بعد از تزریق دوم، از پرندگان مذکور خون‌گیری به عمل آمده و عیار آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز خون گوسفندی از روش رقیق سازی متوالی (سنجش هماگلوتیناسیون) اندازه‌گیری شد (Cheema et al., 2003).

در روز ۴۲ (پایان آزمایش)، به‌طور تصادفی دو پرنده (یک نر و یک ماده) از هر تکرار با شرایط نزدیک به میانگین وزنی گروه، برای کشتار انتخاب شده و چهار ساعت قبل از کشتار به جوجه‌ها گرسنگی داده شد. جوجه‌ها پس از توزین، کشتار شده و وزن نسبی تیموس، طحال و بورس فابریسیوس به‌صورت جداگانه توزین شد. به‌منظور تعیین pH گوشت سینه و ران، بعد از کشتار، یک نمونه ۵۰ گرمی از گوشت سینه و ران جدا گردید و با استفاده از pHمتر الکترود سوزنی

(مدل 330i/SET WTW) میزان pH عضله تعیین شد و رنگ نمونه‌های گوشت در ۲۴ ساعت پس از کشتار با استفاده از رنگ‌سنج الکتریکی[1] در چهار نقطه متفاوت از هر نمونه تعیین شد. این روش بر اساس سیستم سنجش رنگ RGB بود و با استفاده از فرمول، داده‌ها به‌فرمت Lab تبدیل شدند که دارای سه درجه روشنی (L)، قرمزی (a) و زردی (b) بود (Traffano-Schiffo et al., 2021). درصد ماده خشک، اتلاف آب گوشت سینه در اثر فشار و همچنین بعد از پخت، ۲۴ ساعت بعد از کشتار اندازه‌گیری شد (Zhuang et al., 2020). چربی و پروتئین گوشت سینه و ران (Biesek et al., 2020)، کلسترول (Salma et al., 2007) و غلظت مالون‌دآلدهید گوشت سینه (Placer et al., 1966) نیز اندازه‌گیری شد. داده‌های حاصل از آزمایش به‌صورت طرح کاملاً تصادفی و بر اساس مدل آماری زیر توسط نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۴) سال ۲۰۰۴ و رویه GLM (تعداد متفاوت جوجه در هر تکرار به‌دلیل بروز تلفات) تجزیه و تحلیل و آنالیز شدند و میانگین تیمارها در سطح معنی‌داری پنج درصد و با آزمون چند دامنه‌ای دانکن با هم مقایسه شدند (SAS, 2004).

$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$ معادله (۲)

که در آن، Y_{ij}: مشاهدات؛ μ: میانگین مشاهدات؛ T_i: اثر تیمار i و e_{ij}: اثر خطای تصادفی مربوط به هر مشاهده است.

نتایج و بحث

عکس‌های میکروسکوپ الکترونی نشان داد که توکسین‌بایندر بیوچار ماده‌ای متخلخل، ناهمگن و عمدتاً دارای کربن و مقداری فلزات قلیایی است و با توجه به گروه‌های عاملی سطحی و پیک‌های ارائه شده توسط دستگاه Spectra FTIR مشخص شد که پیک ۳۸۱۴ نشان‌دهنده گروه‌های هیدروکسیل و پیک‌های ۳۰۰۰، ۲۹۰۰ و ۲۸۳۲ نشان‌دهنده گروه‌های $-CH_2$ و $-CH_3$ که مربوط به ترکیبات بلند زنجیر آلیفاتیک و پیک‌های ۱۷۰۰ و ۱۶۲۲ مربوط به پیوندهای C=O در حلقه‌های آروماتیک، و پیک ۱۰۷۲ مربوط به گروه هیدروکسیل هستند، زیرا ترکیب بیوچار دارای دو پیک هیدروکسیلی است. با توجه به تهیه بیوچار در دمای ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد، هیچگونه آلودگی میکروبی در بیوچار مشاهده نشد.

تأثیر جیره‌های آزمایشی بر خوراک مصرفی روزانه، افزایش وزن بدن روزانه، ضریب تبدیل خوراک و شاخص بازده تولید در جدول ۲ نشان داده شده است. بر اساس داده‌های جدول، اعمال تنش سرمایی سبب کاهش معنی‌دار خوراک مصرفی روزانه در دوره آغازین، رشد و کل دوره پرورش شد (P<۰/۰۵)، امّا بر میانگین خوراک مصرفی روزانه جوجه‌های گوشتی در دوره پایانی تأثیر معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). در دوره آغازین و کل دوره بین گروه شاهد پرورش یافته در شرایط تنش سرمایی و تیمارهای دارای افزودنی، تفاوت معنی‌داری از لحاظ خوراک مصرفی روزانه وجود نداشت و در دوره رشد، برخلاف انتظار محققین، افزودن ۲۰۰ گرم در تن پروبیوتیک اکوباکتو- پی نسبت به گروه دریافت‌کننده جیره حاوی یک درصد بیوچار و گروه شاهد پرورش یافته در شرایط تنش سرمایی سبب کاهش خوراک مصرفی روزانه جوجه‌های گوشتی شد (P <۰/۰۵).

نتایج جدول ۲ نشان داد که اعمال تنش سرمایی سبب کاهش معنی‌دار افزایش وزن بدن روزانه جوجه‌های گوشتی در دوره‌های آغازین، رشد و پایانی پرورش و همچنین کاهش میزان افزایش وزن بدن روزانه جوجه‌های گوشتی در طی دوره رشد شد (P<۰/۰۵)، امّا بر افزایش وزن بدن جوجه‌های گوشتی در دوره پایانی تأثیر معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). با توجه به مقایسات گروهی بین شاهد پرورش یافته در شرایط تنش سرمایی و تیمارهای دارای افزودنی، در دوره آغازین تفاوت معنی‌داری از لحاظ افزایش وزن بدن روزانه وجود داشت، به‌طوری‌که افزودن ۱ و ۰/۵ درصد بیوچار سبب افزایش وزن روزانه جوجه‌های گوشتی نسبت به گروه شاهد پرورش یافته در شرایط تنش سرمایی شد (P<۰/۰۵). ضریب تبدیل خوراک در دوره‌های آغازین، پایانی و کل دوره تحت تأثیر تنش سرمایی یا افزودنی‌های جیره قرار نگرفت (P < ۰/۰۵)، درحالی‌که در دوره رشد افزودن ۲۰۰ گرم در تن پروبیوتیک اکوباکتو- پی به جیره سبب کاهش معنی‌دار ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی شد (P<۰/۰۵). اعمال تنش سرمایی سبب افزایش معنی‌دار تلفات کل و آسیتی جوجه‌های گوشتی شد، درحالی‌که با توجه به مقایسات گروهی بین شاهد پرورش یافته در شرایط تنش سرمایی و تیمارهای افزودنی‌ها، افزودنی‌های مورد آزمایش قادر به کاهش تلفات آسیتی شدند، به‌طوری‌که جوجه‌های دریافت‌کننده ۰/۵ درصد بیوچار و پروبیوتیک کمترین تلفات آسیتی را در شرایط سرمایی داشتند (P<۰/۰۵)، امّا افزودنی‌ها کل تلفات جوجه‌های گوشتی را کاهش ندادند (P>۰/۰۵).

با توجه به عدم تأثیرگذاری تیمارهای آزمایشی بر ضریب تبدیل خوراک، میزان تلفات هر تیمار تأثیر خود را در شاخص کارائی تولید اروپایی نشان داد، به‌طوری‌که اعمال تنش سرمایی سبب کاهش معنی‌دار این شاخص شد و بین افزودنی‌ها نیز تفاوت معنی‌داری از لحاظ شاخص کارائی تولید اروپایی جوجه‌های گوشتی وجود نداشت (P>۰/۰۵).

1- RGB-Lutron, model: 1002

جدول ۱- مواد خوراکی تشکیل‌دهنده و ترکیب شیمیایی جیره پایه (درصد)

Table 1- Ingredients and chemical composition of basal diet (%)

ماده خوراکی Ingredients	آغازین (۱۰-۱ روزگی) Starter (1- 10 days)	رشد (۲۴-۱۱ روزگی) Grower (11- 24 days)	پایانی (۴۲-۲۵ روزگی) Finisher (25- 42 days)
ذرت Corn	53.1	60.6	66.7
کنجاله سویا (۴۴ درصد پروتئین) Soybean meal (%44 CP)	35.0	29.8	28.1
روغن آفتابگردان Sunflower oil	1.0	1.0	1.6
گلوتن ذرت (۶۰ درصد پروتئین) Corn gluten (%60) CP	6.5	4.6	0
دی کلسیم فسفات DiCalcium phosphate	1.52	1.45	1.2
کربنات کلسیم Calcium carbonate	1.32	1.14	1.1
دی-ال- متیونین DL- methionine	0.24	0.2	0.19
ال-لیزین هیدروکلرید L- lysine HCl	0.28	0.26	0.16
ال-ترئونین L- threonine	0.05	0.042	0.004
نمک Salt	0.24	0.25	0.28
جوش شیرین $NaHCO_3$	0.2	0.2	0.15
مکمل ویتامینه[1] Vitamin premix	0.25	0.25	0.25
مکمل معدنی[2] Mineral premix	0.25	0.25	0.25
ترکیب مواد مغذی محاسبه شده (درصد) Calculated nutrient composition (%)			
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری درکیلوگرم) Metabolizable energy (kcal/kg)	3000.00	3030.00	3030.00
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	23.50	20.90	19.00
لیزین قابل هضم (درصد)[3] Digestible lysine (%)	1.25	1.10	0.98
متیونین قابل هضم (درصد) Digestible methionine (%)	0.60	0.52	0.44
سیستئین قابل هضم (درصد) Digestible cysteine (%)	0.30	0.28	0.27
متیونین + سیستین قابل هضم (درصد) Digestible methionine + cystine (%)	0.90	0.80	0.71

[1] هر کیلوگرم مکمل ویتامینی حاوی: ۳۶۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۸۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3، ۷/۲ گرم ویتامین E، ۰/۸ گرم ویتامین K، ۰/۷ گرم B_1، ۲/۶۴ گرم B_2، ۱۱/۸۸ گرم B_3، ۳/۹۲ گرم کلسیم پنتونات، ۱/۱۷۶ گرم B_6، ۰/۴ گرم B_9، شش میلی‌گرم B_{12} و ۴۰ میلی‌گرم H_2.

[2] هر کیلوگرم مکمل مواد معدنی حاوی: ۱۰۰ گرم کولین کلراید، ۳۹/۶۸ گرم منگنز (اکسید)، ۳۳/۸۸ گرم روی، ۲۰ گرم آهن، چهار گرم مس، ۰/۳۹۶گرم ید و ۰/۰۸ گرم سلنیوم

[3] اسید آمینه قابل هضم استاندارد شده ایلئومی= SID.

[1] Every kilogram vitamin supplement containing: vitamin A, 3600000 Iu; vitamin D3, 800000 Iu; vitamin K, 0.8 g; vitamin B1, 0.7 g; vitamin B_2, 2.64 g; D- calcium pantothenate, 3.92 g; vitamin B_6, 1.176 g; vitamin B_9, 0.4 g; vitamin B_{12}, 6 mg; H_2, 40 mg

[2] Every kilogram mineral supplement containing: choline chloride, 100g; manganese (Oxide), 39.68 g; Zinc, 33.88 g; iron, 20 g; copper, 4 g; iodine, 0.396 g and selenium, 0.08 g

[3] standardized ileal digestible amino acid = SID.

جدول ۲- اثر تیمارهای آزمایشی بر خوراک مصرفی، افزایش وزن بدن روزانه و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی

Table 2- Effect of experimental treatments on daily feed intake and body weight gain and feed conversion ratio of broiler chickens

	تیمارهای آزمایشی[1] Experimental treatments[1]							SEM	P-value[3]	
	1	2	3	4	5	6	7		1	2
خوراک مصرفی (گرم/روز) Feed intake (g/d)										
آغازین Starter	39.4[a]	17.5[b]	20.4[b]	20.8[b]	20.7[b]	19.2[b]	20.3[b]	1.51	0.0001	0.13
رشد Grower	82.3[a]	71.6[b]	70.1[b]	69.6[bc]	69.6[bc]	59.9[c]	63.3[bc]	3.07	0.001	0.17
پایانی Finisher	165.0	159.0	160.0	160.0	149.0	156.0	165.0	5.44	0.423	0.89
کل دوره Total	108.0[a]	96.2[b]	96.9[b]	97.0[b]	91.6[b]	91.6[b]	96.6[b]	3.31	0.040	0.71
وزن بدن (گرم/روز) Weight gain (g/d)										
آغازین Starter	28.5[a]	13.1[c]	15.3[b]	14.7[bc]	15.2[b]	14.2[bc]	14.1[bc]	0.62	0.0001	0.04
رشد Grower	52.1[a]	45.4[ab]	42.1[b]	45.4[ab]	45.4[ab]	42.9[b]	38.9[b]	2.14	0.009	0.63
پایانی Finisher	84.8	87.1	79.1	80.7	77.7	78.9	84.6	2.39	0.209	0.47
کل دوره Total period	60.5[a]	51.7[b]	51.6[b]	53.2[b]	52.0[b]	51.5[b]	52.6[b]	1.33	0.001	0.78
ضریب تبدیل خوراک Feed conversion ration										
آغازین Starter	1.38	1.33	1.32	1.42	1.35	1.36	1.44	0.07	0.88	0.59
رشد Grower	1.58[ab]	1.58[ab]	1.67[a]	1.54[ab]	1.51[ab]	1.39[c]	1.63[ab]	0.04	0.007	0.57
پایانی Finisher	1.94	2.03	2.02	1.99	1.92	1.98	1.95	0.07	0.885	0.45
کل Total	1.78	1.86	1.88	1.82	1.76	1.78	1.84	0.05	0.585	0.51
تلفات کل (درصد) Total mortality (%)	1.9[c]	22.0[a]	11.0[b]	14.7[ab]	17.6[ab]	11.4[b]	24.2[a]	3.92	0.01	0.19
تلفات آسیتی (درصد) Ascite mortality (%)	0.26[c]	8.39[a]	3.18[b]	5.09[b]	5.72[ab]	3.61[b]	6.59[ab]	1.31	0.007	0.03
شاخص کارائی تولید اروپایی European production efficiency factor	315[a]	193[b]	201[b]	227[b]	229[b]	230[b]	194[b]	12	0.0001	0.11

[1] ۱- جیره پایه (شاهد مثبت- پرورش در دمای توصیه شده سویه راس)، ۲- جیره پایه (شاهد منفی- پرورش در شرایط تنش سرمایی)، ۳- شاهد منفی + ۰/۵ درصد بیوچار، ۴- شاهد منفی + ۰/۷۵ درصد بیوچار، ۵- شاهد منفی + ۱ درصد بیوچار، ۶- شاهد منفی + پروبیوتیک (۲۰۰ گرم در تن)، ۷- شاهد منفی + زئولیت (یک کیلوگرم در تن)

آغازین (۱- ۱۰ روزگی)، رشد (۲۵- ۱۱ روزگی)، پایانی (۴۲- ۲۶ روزگی) و کل دوره (۴۲- ۱ روزگی)

[3] ۱- P-value مقایسات میانگین کل تیمارها و ۲- P-value مقایسه گروهی بین تیمار ۲ با تیمارهای ۳-۷.

[1] 1- Basal ration (positive control- rearing in recommended temperature of Ross strain), 2) negative control (fed basal diet and rearing in cold stress), 3) negative control + %0.5 solid waste biochar, 4) negative control + %0.75 solid waste biochar, 5) negative control + 1% solid waste biochar, 6) negative control + probiotic Ecobacto-P (200 g/ton), 7) negative control + 1 kg /ton zeolite

[2] Starter (1- 10 days), Grower (11- 25 days), Finisher (26- 42 days) and Total Period (1- 42 days).

[3] 1- P-value of total analysis and 2- P-value of contrast analysis between treatment 2 and treatments 3-7.

موافق با نتایج آزمایش حاضر، نشان داده شده است که تنش سرمایی حاد، منجر به سرکوب رشد و عملکرد تولید طیور می‌شود (Sahin et al., 2003). قرار دادن جوجه‌ها در معرض تنش سرمایی در طی دوره‌های مختلف قبل از مصونیت‌سازی منجر به کاهش وزن بدن (به‌صورت عددی) شد و افزایش وزن بدن پرندگان با طول مدت تنش سرمایی رابطه معکوس داشت (Hangalapura, 2006)، درحالی‌که محققین با بررسی تأثیر اعمال دوره‌ای تنش سرمایی به جوجه‌های گوشتی (روز سوم و چهارم به‌مدت ۳-۴ ساعت در دمای دو تا هشت درجه سانتی‌گراد و از هفته سوم تا هفته ششم در دمای ۲۵ درجه یا ۲-۸ درجه سانتی‌گراد) گزارش کردند که تنش سرمایی موجب افزایش خوراک مصرفی جوجه‌های گوشتی شد، درحالی‌که وزن بدن و افزایش وزن بدن تحت تأثیر تیمارهای دمایی مختلف قرار نگرفت و تلفات کل و آسیتی جوجه‌های تحت تنش سرمایی بالاتر از گروه شاهد بود (Qureshi et al., 2018). گزارش شده است که با کاهش دما و اعمال تنش سرمایی مقادیر زیادی از انرژی دریافتی جوجه در روده کوچک صرف می‌شود که در این رابطه، محققین گزارش کردند که در سلول‌های انتروسیت در اثر تنش سرمایی کوتاه مدت (۷۲ ساعته) بیان ژن پروتئین‌کیناز فعال شده توسط آدنوزین مونوفسفات (AMPK) افزایش یافت که نشان‌دهنده افزایش مصرف انرژی در انتروسیت‌ها است (Zhou et al., 2021) و این مسئله می‌تواند افزایش ضریب تبدیل خوراک و کاهش عملکرد جوجه‌های گوشتی پرورش یافته در شرایط تنش سرمایی را توضیح دهد. در آزمایش حاضر، احتمالاً به‌دلیل اعمال تنش سرمایی از ابتدای هفته دوم و همچنین کاهش شدید دما، جوجه‌های گوشتی به‌خصوص در هفته دوم قادر به حفظ دمای بدن با افزایش خوراک مصرفی نبودند و به‌منظور حفظ بقای خود بیشتر در کنار هم قرار گرفته و از خوردن خوراک امتناع کردند که می‌تواند دلیل احتمالی کاهش خوراک مصرفی باشد.

برخلاف نتایج پژوهش حاضر، محققین گزارش کردند که جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره حاوی چهار تا شش درصد بیوچار چوب ذرت نسبت به جوجه‌های تغذیه شده با دو درصد بیوچار و جیره شاهد از نظر وزن نهایی سنگین‌تر بودند و ضریب تبدیل خوراک از ۳/۰۲ (گروه شاهد) به ۱/۸۹ (گروه شش درصد بیوچار) بهبود یافت (Dim et al., 2018). در مطالعه‌ای، پرندگان تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۵ درصد بیوچار، افزایش وزن روزانه بالاتری در مقایسه با پرندگان تغذیه شده با جیره‌ی حاوی دو یا چهار درصد بیوچار داشتند (Cheron, 2017). همچنین، مکمل بیوچار موجب بهبود عملکرد رشد در نشخوارکنندگان (Man et al., 2021) و رشد و بقای ماهی‌ها نیز شده است (Mabe et al., 2018)، به‌طوری‌که افزودن بیوچار به‌مقدار دو تا هشت درصد (بیوچار دریافت شده ۰/۰۵ تا ۰/۳۳ درصد ماده خشک جیره) خوراک موجب افزایش وزن، مصرف خوراک و بهبود مصرف مواد مغذی در گاوهای زرد محلی شده است (Saroeun et al., 2018; Winders et al., 2018). در مطالعه دیگری ایوانز و همکاران (Evans et al., 2017) نشان دادند که افزودن بیوچار فضولات طیور (PLB[1]) به جیره جوجه‌های گوشتی سبب کاهش مصرف خوراک، کاهش افزایش وزن بدن و افزایش ضریب تبدیل خوراک شد و علت آن را میزان بالای آرسنیک در بیوچار فضولات مرغ ذکر کردند. بیوچار مورد استفاده در این آزمایش چرون و همکاران (Cheron, 2017) در سال ۲۰۱۷، حاوی ۹۹ ppm آرسنیک بود، ولی سایر اشکال بیوچار (مانند بیوچار نیشکر)، سطح قابل توجهی آرسنیک ندارند و ممکن است نسبت به بیوچار حاصل از فضولات طیور به‌میزان کمتری برای عملکرد پرنده مضر باشند. در مقابل، تغذیه جوجه‌های گوشتی یک روزه با جیره حاوی دو درصد بیوچار کود مرغی، اثر نامطلوبی بر عملکرد رشد جوجه‌ها نداشت و منجر به افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک مشابه در مقایسه با خوراک شاهد شد.

موافق با نتایج آزمایش حاضر، محققین با افزودن یک درصد بیوچار کود مرغی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی راس-۳۰۸ گزارش کردند که عملکرد جوجه‌های گوشتی (خوراک مصرفی، وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک) تحت تأثیر مکمل بیوچار قرار نگرفت (Rashidi et al., 2020). به نظر می‌رسد که توکسین‌بایندر بیوچار به‌دلیل ویژگی‌های ساختمانی و ساختار جذبی که دارد می‌تواند با سموم باکتریایی و قارچی باند شده و مانع از جذب این سموم توسط دستگاه گوارش و جلوگیری از اثرات مخرب اندوتوکسین‌ها بر بدن شود و اثرات مثبتی بر فلور میکروبی دستگاه گوارش و زنده‌مانی پرنده ها دارد (Gerlach & Schmidt, 2012). موافق با نتایج آزمایش حاضر، در گزارشی در سال ۲۰۱۴، تغییر معنی‌داری در وزن بدن، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با بیوچار مشاهده نشد (ARDCorp, 2014). کاهش عملکرد رشد طیور دریافت‌کننده بیوچار می‌تواند به‌دلیل باند شدن بیوچار با مواد مغذی موجود در دستگاه گوارش باشد، زیرا توانایی بیوچار برای اتصال به آب ممکن است هر گونه اثرات منفی هضم مواد مغذی را تشدید کند. اگر میزان آب موجود در محتویات روده زیاد باشد، در هنگام عبور محتویات از روده کوچک ممکن است به‌دلیل رقیق شدن و پایین آمدن سطح تماس بین اپیتلیوم روده کوچک و محتویات گوارشی آن، از جذب مواد مغذی جلوگیری شود. به‌طور دقیق مشخص نیست که چرا پرندگان با تغذیه جیره حاوی بیوچار بالاتر نسبت به پرندگانی که از جیره شاهد یا جیره حاوی میزان کمتری

1- Poultry litter biochar

بیوچار استفاده می‌کنند، عملکرد خوبی ندارند (Cheron, 2017).

برخلاف نتایج آزمایش حاضر، خوراک مصرفی و افزایش وزن کل دوره جوجه‌های دریافت‌کننده پروبیوتیک بیومین و پرورش یافته تحت تنش سرمایی نسبت به گروه شاهد کاهش داشت، درحالی‌که افزودن پروبیوتیک پروتکسین موجب افزایش وزن بدن و خوراک مصرفی جوجه‌های پرورش یافته تحت تنش سرمایی نسبت به گروه شاهد شد، امّا ضریب تبدیل خوراک تحت تأثیر مکمل پروبیوتیک پروتکسین یا بیومین- ایمبو قرار نگرفت (Ranjbar et al., 2013). همچنین در سال ۲۰۱۵، محققین گزارش کردند که افزودن پروبیوتیک تجاری PoultryStar® در شرایط تنش سرمایی منجر به بهبود وزن بدن و کاهش ضریب تبدیل خوراک مصرفی شد، درحالی‌که بر میزان مرگ و میر جوجه‌های گوشتی تأثیر معنی‌داری نداشت (Huff et al., 2015). محققین دیگری با افزودن پروبیوتیک *باسیلوس سوبتیلیس* (*B. subtilis*) و *باسیلوس لشنیفرمیس* (*B. licheniformis*) غنی شده با سلنیوم (۱۰۰۰ میلی‌لیتر از محلول در ۱۰۰ کیلوگرم خوراک) (Se-enriched *Bacillus*: SECB) به جیره جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی از هفته ۵ تا ۸ با دمای ۵/۵ تا ۱۵/۵ درجه سانتی‌گراد گزارش کردند که جوجه‌های تغذیه شده با SECB یا ترکیب *باسیلوس* وزن بدن بالاتری نسبت به گروه شاهد داشتند و جوجه‌های دریافت‌کننده SECBیا پروبیوتیک *باسیلوس* وزن بدن بالاتری نسبت به جوجه‌های شاهد یا جوجه‌های دریافت‌کننده سلنیوم غیر آلی داشتند (Yang et al., 2019). در شرایط تنش سرمایی، مواد ضد میکروبی تولید شده توسط *باسیلوس سوبتیلیس* مانند ایتورین و سورفاکتین و آنزیم پروتئاز، لیپاز و آمیلاز تولید شده توسط *باسیلوس لشنیفرمیس* نقش مهمی در حفظ سلامت بدن و تجزیه خوراک برای جذب مواد مغذی دارند (Ohno et al., 1995).

در آزمایش حاضر (تنش سرمایی)، افزودن زئولیت منجر به بهبود عملکرد و جبران کاهش رشد ناشی از تنش سرمایی در جوجه‌های گوشتی نشد و موافق با نتایج آزمایش حاضر، در زمینه تأثیر زئولیت بر عملکرد و بروز آسیت در جوجه‌های گوشتی آرین محققین با افزودن ۱/۱۱۵ کیلوگرم زئولیت (سولفات آلومینیوم) در ترکیب با آهک یا اسید سیتریک به هر مترمربع از بستر گزارش کردند که عملکرد جوجه‌های گوشتی (افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی)، درصد تلفات و درصد بروز آسیت تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (Farhadi et al., 2013).

تأثیر جیره‌های آزمایشی بر فراسنجه‌های سرم خون جوجه‌های گوشتی در جدول ۳ نشان داده شده است. اعمال تنش سرمایی سبب کاهش معنی‌دار پروتئین کل، گلوبولین و آلبومین سرم خون جوجه‌های گوشتی شد (P<۰/۰۵)، امّا با توجه به مقایسات گروهی بین شاهد پرورش یافته در شرایط تنش سرمایی و تیمارهای افزودنی‌ها، مکمل کردن سطوح مختلف بیوچار، پروبیوتیک اکوباکتو-پی یا زئولیت بر غلظت سرمی گلوبولین و آلبومین جوجه‌های پرورش یافته تحت تنش سرمایی تأثیر معنی‌داری نداشتند (P>۰/۰۵).

در رابطه با تأثیر بیوچار بر متابولیت‌های خونی جوجه‌های گوشتی پرورش یافته در شرایط تنش سرمایی اطلاعات زیادی در دسترس نیست و بیشتر تحقیقات انجام شده در شرایط تنش آلودگی با آفلاتوکسین بوده است. محققین دیگری با افزودن پروبیوتیک *باسیلوس‌سوبتیلیس* (*B. subtilis*) و *باسیلوس لشنیفرمیس* (*B. licheniformis*) غنی شده با سلنیوم (۱۰۰۰ میلی‌لیتر از محلول در ۱۰۰ کیلوگرم خوراک) (Se-enriched *Bacillus*: SECB) به جیره جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی از ۵ تا ۸ هفتگی با دمای ۵/۵ تا ۱۵/۵ درجه سانتی‌گراد گزارش کردند که ظرفیت آنتی اکسیدانی کل، سوپراکسید کل توانایی دیسموتاز و گلوتاتیون‌پراکسیداز در ماهیچه سینه افزایش و غلظت مالون‌دی‌آلدئید پلاسما به‌طور قابل توجهی کاهش یافت. افزودن پروبیوتیک مذکور منجر به کاهش غلظت کلسترول کل پلاسما و غلظت تری‌گلیسیرید و LDL-کلسترول پلاسما و عضله سینه و افزایش HDL- کلسترول پلاسما در مقایسه با گروه شاهد شد (Yang et al., 2019). در رابطه با تأثیر زئولیت بر متابولیت‌های خونی، صفایی کتولی و همکاران (Safaeikatouli et al., 2010) نشان دادند که در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره‌های حاوی ۳۰ گرم در کیلوگرم زئولیت، مقدار پروتئین سرم خون افزایش و میزان کلسترول کل، HDL، LDL و VLDL کلسترول تحت تأثیر قرار نگرفت، امّا میزان گلوکز سرم کاهش نشان داد و افزودن پنج گرم در کیلوگرم زئولیت به جیره جوجه‌های گوشتی تأثیری بر غلظت گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسرید نداشت (Prvulovic et al., 2008).

تأثیر جیره‌های آزمایشی بر شمار سلول‌های خونی جوجه‌های گوشتی در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج جدول نشان داد که در مقایسه با گروه پرورش یافته در دمای توصیه شده سویه راس، اعمال تنش سرمایی سبب افزایش شمار گلبول قرمز و سفید خون، میزان هموگلوبین، درصد هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت و کاهش درصد لنفوسیت شد (P<۰/۰۵). در گروه تحت تنش سرمایی، افزودن یک درصد بیوچار و پروبیوتیک منجر به کاهش شمار گلبول سفید خون و غلظت هموگلوبین خون تا حد گروه شاهد پرورش یافته در دمای توصیه شده سویه شد (P<۰/۰۵)، امّا با توجه به مقایسات گروهی بین شاهد پرورش یافته در شرایط تنش سرمایی و تیمارهای افزودنی‌ها، افزودنی‌ها بر شمار گلبول قرمز خون، درصد لنفوسیت و هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت تأثیر معنی‌داری نداشتند (P>۰/۰۵) و قادر به بهبود شمار سلول‌های خونی جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی نبودند.

جدول ۳- اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های سرم خون (گرم بر دسی‌لیتر) و جمعیت سلول‌های خونی جوجه‌های گوشتی

Table 3- Effect of experimental treatments on blood serum indices (g/dl) and blood cell count of broiler chickens

فراسنجه Parameter	تیمارهای آزمایشی[۱] Experimental treatments[1]							SEM	P-value[2]	
	1	2	3	4	5	6	7		1	2
پروتئین کل (g/dl) Total protein (g/dl)	6.22[a]	3.19[b]	3.08[bc]	2.49[c]	2.79[bc]	2.86[bc]	2.75[bc]	0.19	0.001	0.08
آلبومین (g/dl) Albumin	1.56[b]	2.45[a]	2.31[a]	2.16[a]	2.31[a]	2.40[a]	2.54[a]	0.15	0.024	0.57
گلوبولین (g/dl) Globulin (g/dl)	4.66[a]	0.75[b]	0.77[b]	0.33[b]	0.48[b]	0.46[b]	0.30[b]	0.19	0.003	0.13
گلبول قرمز (۱۰^۱۲×۱) Red blood cell	2.30[b]	3.40[a]	3.44[a]	3.40[a]	3.48[a]	3.60[a]	4.01[a]	0.16	0.03	0.63
گلبول سفید (۱۰^۷×۱) White blood cell	3.38[b]	3.62[a]	3.66[a]	3.56[a]	3.41[b]	3.89[b]	4.03[ab]	0.06	0.02	0.31
هموگلوبین (g/dl) Hemoglobin (g/dl)	8.0[c]	11.0[ab]	12.8[a]	12.1[a]	10.1[a]	9.0[bc]	10.3[abc]	0.80	0.007	0.89
لنفوسیت (درصد) Lymphocyte (%)	74.8[a]	55.8[b]	55.2[b]	54.2[b]	52.0[b]	54.8[b]	55.6[b]	1.96	0.001	0.56
هتروفیل (درصد) Heterophil (%)	24.8[b]	42.3[a]	42.8[a]	44.6[a]	46/0[a]	43.4[a]	42.4[a]	1.79	0.001	0.47
نسبت هتروفیل به لنفوسیت Heterophile to lymphocyte ration	0.33[b]	0.76[a]	0.79[a]	0.83[a]	0.89[a]	0.81[a]	0.77[a]	0.059	0.001	0.41

[۱] ۱- جیره پایه (شاهد مثبت- پرورش در دمای توصیه شده سویه راس)، ۲- جیره پایه (شاهد منفی- پرورش در شرایط تنش سرمایی)، ۳- شاهد منفی + ۰/۵ درصد بیوچار، ۴- شاهد منفی + ۰/۷۵ درصد بیوچار، ۵- شاهد منفی + ۱ درصد بیوچار، ۶- شاهد منفی + پروبیوتیک (۲۰۰ گرم در تن)، ۷- شاهد منفی + زئولیت (یک کیلوگرم در تن).

۱- P-value مقایسات میانگین کل تیمارها و ۲- P-value مقایسه گروهی بین تیمار ۲ با تیمارهای ۳-۷.

[1] 1- Basal ration (positive control- rearing in recommended temperature of Ross strain), 2) negative control (fed basal diet and rearing in cold stress), 3) negative control + %0.5 solid waste biochar, 4) negative control + %0.75 solid waste biochar, 5) negative control + 1% solid waste biochar, 6) negative control + probiotic Ecobacto-P (200 g/ton), 7) negative control + 1 kg /ton zeolite.

[2] 1- P-value of total analysis and 2- P-value of contrast analysis between treatment 2 and treatments 3-7.

نسبت هتروفیل به لنفوسیت به‌عنوان شاخص تـنش در حیوانـات مختلف از جمله جوجه‌های گوشتی است و در توافق با نتایج آزمـایش حاضر، گزارش شده است که تنش سرمایی، منجر بـه کـاهش تعـداد لنفوسیت‌های خون جوجه‌های گوشتی شد که متعاقباً منجر به افزایش نسبت هتروفیل بـه لنفوسـیت شـده اسـت (Olfati et al., 2018) و گزارش شده است که بیوچار موجب بهبود پروفایل خـون در حیوانـات نشخوارکننده می‌شـود (Man et al., 2021). موافـق نتـایج آزمـایش حاضر، محققین با افزودن دو نوع پروبیوتیک (پروتکسـین و بیـومین-ایمبو) به جیره جوجه‌های گوشتی راس-۳۰۸ پرورش یافته در شـرایط عادی و تحت تنش سرمایی از سن سه تا شش هفتگی گزارش کردند که تنش سرمایی منجر به کـاهش لنفوسـیت و افـزایش هتروفیـل و نسـبت هتروفیـل بـه لنفوسـیت شـد و افـزودن هـر دو پروبیوتیـک پروتکسین و بیومین- ایمبـو منجـر بـه افـزایش لنفوسـیت و کـاهش هتروفیل و نسبت هتروفیل به لنفوسیت شدند، به‌طوری‌کـه بـا شـاهد پرورش یافته در دمای توصیه شده قابل رقابت بودنـد، امّـا نتوانسـتند موجب کاهش تعداد کل گلبول‌های سفید خون جوجه‌های تحت تنش سرمایی شوند (Ranjbar et al., 2013).

اثر تیمارهای آزمایشی بر وزن نسبی اندام‌های لنفاوی جوجه‌هـای گوشتی در جدول ۴ نشان داده شده است. همان‌طـوری کـه ملاحظـه می‌شود، در مقایسه با گروه پرورش یافته در دمای توصیه شده سـویه راس، اعمال تنش سرمایی سبب کاهش وزن نسبی غده تیموس شد و وزن نسبی طحـال و بـورس فابرسـیویس تـأثیر معنـی‌داری نداشـت (P>۰/۰۵). با توجه به مقایسات گروهی بین شاهد پـرورش یافتـه در شرایط تنش سرمایی و تیمارهای افزودنی‌ها، همه افزودنی‌های مـورد آزمایش باعث کـاهش وزن نسـبی تیمـوس جوجـه‌هـای گوشـتی در مقایسه با تیمار تنش سرمایی شدند. موافق با نتایج آزمـایش حاضـر و انجام تحقیق در شرایط دمایی توصیه شده، گـزارش شـده اسـت کـه استفاده از پنج گرم در کیلوگرم زئولیت به جیره جوجـه‌هـای گوشـتی، وزن نسبی پانکراس و بـورس‌فابریسـیوس را تحـت تـأثیر قـرار نـداد (Prvulovic et al., 2008) و در مقابل، در تحقیق دیگری در همـین راستا در جوجه‌های گوشتی جنس نر، نشان داده شد که کلینوپتیلیت‌ها موجب کاهش وزن نسبی طحال شد (Lotfollahian et al., 2004).

اثر تیمارهای مختلف آزمایشی بر پاسخ ایمنی هموراl جوجه‌های گوشتی علیه گلبول قرمز خون گوسفند در جدول ۴ نشان داده شده است.

جدول ٤- اثر تیمارهای آزمایشی بر وزن نسبی (نسبت به وزن زنده) اندام‌های لنفاوی و عیار آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز خون گوسفند (Log2) در جوجه‌های گوشتی

Table 4- The effect of experimental treatments on relative weight of lymphoid organ (ratio as BW) and antibody levels against sheep red blood cells (Log2) in broiler chickens

فراسنجه Parameter	تیمارهای آزمایشی[1] Experimental treatments[1]							SEM	P-value[2]	
	1	2	3	4	5	6	7		1	2
وزن نسبی اندام لنفاوی Relative weight of lymphoid organs										
طحال Spleen	0.128	0.128	0.118	0.125	0.135	0.118	0.098	0.028	0.978	0.78
بورس Bursa	0.190	0.218	0.185	0.325	0.168	0.183	0.175	0.056	0.481	0.87
تیموس Thymus	0.54^{a}	0.23^{b}	0.15^{c}	0.12^{c}	0.15^{c}	0.11^{c}	0.08^{c}	0.027	0.0001	0.001
ایمنی اولیه Primary immunity										
ایمنوگلوبولین-G Ig- G	1.88^{b}	2.38^{ab}	2.80^{a}	2.30^{ab}	2.70^{a}	2.40^{ab}	1.90^{b}	0.19	0.009	0.84
ایمنوگلوبولین-M Ig- M	1.13^{b}	2.00^{a}	2.00^{a}	2.10^{a}	2.10^{a}	1.60^{ab}	2.00^{a}	0.20	0.017	0.86
ایمنوگلوبولین کل Total Ig	3.00^{b}	4.38^{a}	4.80^{a}	4.40^{a}	4.80^{a}	4.00^{a}	3.90^{ab}	0.31	0.004	0.98
ایمنی ثانویه Secondary immunity										
ایمنوگلوبولین-G Ig- G	2.00^{b}	4.75^{a}	5.30^{a}	5.00^{a}	5.80^{a}	5.00^{a}	4.80^{a}	0.35	0.0001	0.31
ایمنوگلوبولین-M Ig- M	1.50^{b}	3.25^{a}	3.60^{a}	3.80^{a}	3.70^{a}	3.80^{a}	3.80^{a}	0.28	0.0001	0.14
ایمنوگلوبولین کل Total Ig	3.50^{c}	8.00^{b}	8.90^{ab}	8.80^{ab}	9.50^{a}	8.80^{ab}	8.60^{ab}	0.44	0.0001	0.08

[1] ۱- جیره پایه (شاهد مثبت- پرورش در دمای توصیه شده سویه راس)، ۲- جیره پایه (شاهد منفی- پرورش در شرایط تنش سرمایی)، ۳- شاهد منفی + ۰/۵ درصد بیوچار، ۴- شاهد منفی + ۰/۷۵ درصد بیوچار، ۵- شاهد منفی + ۱ درصد بیوچار، ۶- شاهد منفی + پروبیوتیک (۲۰۰ گرم در تن)، ۷- شاهد منفی + زئولیت (یک کیلوگرم در تن).

[2] ۱- P-value مقایسات میانگین کل تیمارها و ۲- P-value مقایسه گروهی بین تیمار ۲ با تیمارهای ۳-۷.

[1] 1- Basal ration (positive control- rearing in recommended temperature of Ross strain), 2) negative control (fed basal diet and rearing in cold stress), 3) negative control + %0.5 solid waste biochar, 4) negative control + %0.75 solid waste biochar, 5) negative control + 1% solid waste biochar, 6) negative control + probiotic Ecobacto-P (200 g/ton), 7) negative control + 1 kg /ton zeolite.

[2] 1- P-value of total analysis and 2- P-value of contrast analysis between treatment 2 and treatments 3-7.

نتایج نشان داد که اعمال تنش سرمایی سبب افزایش عیار آنتی‌بادی ثانویه جوجه‌های گوشتی علیه SRBC شد (P < ۰/۰۵)، امّا بر پاسخ ایمنی اولیه تأثیر معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). در رابطه با تأثیر افزودنی‌ها بر پاسخ ایمنی هموراl جوجه‌های گوشتی روند یا پاسخ دقیقی مشاهده نشد و بین تأثیر افزودنی‌های مختلف بر عیار آنتی‌بادی علیه SRBC تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵). در رابطه با تأثیر تنش سرمایی بر پاسخ ایمنی طیور گوشتی نظرات مختلفی وجود دارد. تنش سرمایی می‌تواند مقاومت بدن را در مقابل ریزجانداران موجود در محیط کاهش دهد؛ با این حال، به‌طور کلی تنش سرمایی به‌طور ثابتی بر سیستم ایمنی تأثیر نمی‌گذارد و می‌تواند سبب تقویت و یا سرکوب پاسخ‌ها در جوجه‌های گوشتی شود (Hangalapura et al., 2006; Siegel, 1995) و محققین دیگری نیز هیچ مدرکی مبنی بر سرکوب ایمنی هموراl تحت شرایط تنش سرمایی القا شده پیدا نکردند (Dabbert et al., 1997). در مقابل، اثرات اندک تنش سرمایی حاد بر عیار آنتی‌بادی گلبول قرمز گوسفند در جوجه‌های گوشتی و مرغ‌های تخم‌گذار گزارش شده است

(Regnier & Kelley, 1981).

ایمنی سلولی در خروس‌هایی که در معرض سرما قرار گرفته‌اند کاهش می‌یابد، در حالی که اثر تقویت‌کننده تنش سرمایی بر ایمنی سلولی در جوجه‌های در حال رشد و افزایش فعالیت فاگوسیتی و بهبود ایمنی سلولی نیز گزارش شده است (Hangalapura, 2006). تنش سرمایی در دمای هفت درجه سانتی‌گراد تولید آنتی‌بادی را افزایش می دهد. با این حال، هستر و همکاران (HESTER et al., 1996) گزارش کردند که قرار گرفتن در دمای صفر درجه سانتی‌گراد پاسخ آنتی‌بادی را در مرغ‌های قفسی کاهش داد که تا حدی مبتنی بر اثرات سرکوب‌کننده ایمنی در اثر افزایش غلظت گلوکوکورتیکوئیدها تحت تأثیر تنش سرمایی است، امّا در مرغ‌هایی که به‌صورت گروهی نگهداری می‌شدند، این طور نبود (Hangalapura, 2006). در رابطه با تأثیر زئولیت بر ایمنی جوجه‌های گوشتی، محققین با افزودن ۱/۱۱۵ کیلوگرم زئولیت (سولفات آلومینیوم) در ترکیب با آهک یا اسید سیتریک به هر مترمربع از بستر گزارش کردند که عیار پادتن علیه گلبول قرمز گوسفند و پاسخ به تزریق فیتوهماگلوتنین تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (Farhadi et al., 2013). استفاده از پروبیوتیک‌ها در جیره، موجب بهبود پاسخ ایمنی در حیوانات آبزی (Amoah et al., 2021)، مرغ (Xu et al., 2018) و خوک (Nawaz et al., 2021) می‌شود.

جدول ۵- اثر تیمارهای آزمایشی بر رنگ و pH گوشت سینه و ران جوجه‌های گوشتی تحت آزمایش

Table 5- Effect of experimental treatments on color and pH of breast and thigh meat of broiler chickens

	تیمارهای آزمایشی[1] Experimental treatments[1]							SEM	P-value[2]	
	1	2	3	4	5	6	7		1	2
گوشت سینه Breast meat										
pH pH	5.9^{c}	4.4^{d}	5.8^{c}	7.2^{b}	7.6^{ab}	8.0^{a}	8.0^{a}	0.24	0.001	0.01
روشنایی (L) Lightness (L)	24.8^{c}	104^{a}	111^{a}	105^{a}	94^{ab}	99.3^{ab}	84^{b}	5.0	0.001	0.32
زردی (b) Yellowness (b)	11.6^{b}	10.3^{b}	14.4^{ab}	12.3^{ab}	16.8^{a}	15.3^{ab}	15.4^{ab}	1.5	0.04	0.68
قرمزی (a) Redness (a)	21.6^{a}	13.3^{b}	13.5^{b}	15.4^{b}	12.8^{b}	15.7^{b}	12.0^{b}	1.4	0.01	0.06
گوشت ران Thigh meat										
PH PH	6.7^{bc}	4.6^{d}	6.3^{c}	7.1^{b}	7.63^{ab}	7.8^{a}	7.90^{a}	0.19	0.001	0.001
روشنایی (L) Lightness (L)	28.8^{d}	94.2^{a}	100^{a}	83.5^{ab}	69^{bc}	83.0^{ab}	59.4^{c}	5.2	0.001	0.009
زردی (b) Yellowness (b)	16.8^{c}	14.6^{d}	22.1^{a}	17.3^{bc}	18.1^{bc}	19.0^{b}	15.4^{cd}	1.0	0.001	0.21
قرمزی (a) Redness (a)	22.8	18.0	19.1	21.0	20.9	18.3	19.7	1.3	0.29	0.009

[1] ۱- جیره پایه (شاهد مثبت- پرورش در دمای توصیه شده سویه راس)، ۲- جیره پایه (شاهد منفی- پرورش در شرایط تنش سرمایی)، ۳- شاهد منفی + ۰/۵ درصد بیوچار، ۴- شاهد منفی + ۰/۷۵ درصد بیوچار، ۵- شاهد منفی + ۱ درصد بیوچار، ۶- شاهد منفی + پروبیوتیک (۲۰۰ گرم در تن)، ۷- شاهد منفی + زئولیت (یک کیلوگرم در تن).

[2] ۱- P-value مقایسات میانگین کل تیمارها و ۲- P-value مقایسه گروهی بین تیمار ۲ با تیمارهای ۳-۷.

[1] 1- Basal ration (positive control- rearing in recommended temperature of Ross strain), 2) negative control (fed basal diet and rearing in cold stress), 3) negative control + %0.5 solid waste biochar, 4) negative control + %0.75 solid waste biochar, 5) negative control + 1% solid waste biochar, 6) negative control + probiotic Ecobacto-P (200 g/ton), 7) negative control + 1 kg /ton zeolite.

[2] 1- P-value of total analysis and 2- P-value of contrast analysis between treatment 2 and treatments 3-7.

اثر تیمارهای آزمایشی بر رنگ گوشت سینه و ران جوجه‌های گوشتی در جداول ۵ و ۶ نشان داده شده است. نتایج این جدول نشان داد که اعمال تنش سرمایی سبب افزایش روشنایی و کاهش pH و قرمزی گوشت سینه جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی شد (P < ۰/۰۵)، امّا بر زردی گوشت سینه تأثیر معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). در رابطه با رنگ گوشت ران، اعمال تنش سرمایی

روشنایی گوشت ران را افزایش و pH و زردی آن را کاهش داد (۰/۰۵ > P)، امّا بر قرمزی گوشت ران تأثیر معنی‌داری نداشت (۰/۰۵ < P).

با توجه به مقایسات گروهی بین شاهد پرورش یافته در شرایط تنش سرمایی و تیمارهای افزودنی‌ها، همه افزودنی‌ها سبب افزایش pH گوشت سینه و ران در مقایسه با گروه شاهد شدند، به‌طوری‌که تا حد شاهد مثبت (پرورش یافته در شرایط دمایی توصیه شده) یا حتی بالاتر افزایش یافت. در رابطه با تأثیر افزودنی‌ها بر رنگ گوشت ران داده‌ها نشان دادند که رنگ گوشت سینه تحت تأثیر تیمارهای تغذیه‌ای قرار نگرفت، امّا با توجه به مقایسات گروهی بین شاهد پرورش یافته در شرایط تنش سرمایی و تیمارهای افزودنی‌ها، در مقایسه با گروه شاهد، روشنایی گوشت ران در اثر افزودن یک درصد بیوچار یا زئولیت کاهش یافت و افزودن بیوچار در همه سطوح و پروبیوتیک سبب افزایش زردی و افزودن بیوچار در همه سطوح و زئولیت سبب افزایش قرمزی گوشت ران شدند (۰/۰۵ > P). همان طور که در جدول ۶ ملاحظه می‌شود، تنش سرمایی و افزودنی‌های مختلف بر درصد ماده خشک، پروتئین خام، ظرفیت نگهداری آب، اتلاف آب ناشی از تراوش و پخت و پز گوشت سینه تأثیر معنی‌داری نداشتند (P>۰/۰۵) و فقط غلظت مالون‌دی‌آلدهید گوشت سینه تحت تأثیر تنش سرمایی افزایش یافت (۰/۰۵ > P). با توجه به مقایسات گروهی بین شاهد پرورش یافته در شرایط تنش سرمایی و تیمارهای افزودنی‌ها، در مقایسه با گروه شاهد، افزودن زئولیت به جیره جوجه‌های گوشتی در شرایط تنش سرمایی به‌طور معنی‌داری سبب افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدهید گوشت سینه شد (۰/۰۵ > P).

رنگ گوشت تحت تأثیر pH گوشت و همچنین بروز یا عدم بروز تنش قبل از کشتار قرار دارد. تنش مزمن تأثیر قابل توجهی بر صفات رنگ (L و a) گوشت دارد (Leishman et al., 2021) و افزایش pH عضله پس از مرگ به‌دلیل دمای پایین قبل از مرگ جوجه منجر به تولید محصول تیره‌تر می‌شود که مورد پسند مصرف‌کننده نیست (Dadgar et al., 2011) و دلیل این مسئله می‌تواند به کاهش دریافت و افزایش مصرف انرژی به‌منظور مقابله با کاهش دمای بدن و کاهش ذخایر سلول‌های عضلانی باشد که سبب افزایش pH و تیره تر شدن گوشت می‌شود. پرندگان جهت حفظ دمای مرکزی بدن در شرایط سرد مجبور به استفاده از گلیکوژن ماهیچه‌ای به‌عنوان منبع انرژی می‌شوند (Haman et al., 2005). کاهش گلیکوژن عضله، قبل از کشتار، تشکیل لاکتات پس از مرگ را در گوشت کاهش می‌دهد و منجر به pH بالاتر عضله می‌شود (Dadgar et al., 2011). تنش دمایی حاد تأثیر بیشتری نسبت به تنش دمایی مزمن بر pH نهایی دارد (Leishman et al., 2021). تنش دمایی موجب کاهش کیفیت گوشت می‌شود (Barbut et al., 2005). با کاهش دما میزان DFD[1] گوشت افزایش می‌یابد (Leishman et al., 2021؛ Adzitey & Nurul, 2011).

احتمال دارد که افزودنی‌ها با بهبود قابلیت هضم یا فراهم کردن مواد مغذی بیشتر یا افزایش ذخایر عضلات سبب بهبود رنگ گوشت شوند. در این رابطه، محققین با افزودن پروبیوتیک *باسیلوس سوبتیلیس* (*B. subtilis*) و *باسیلوس لشنیفرمیس* (*B. licheniformis*) غنی شده با سلنیوم (۱۰۰۰ میلی‌لیتر از محلول در ۱۰۰ کیلوگرم خوراک) (Se-enriched *Bacillus*: SECB) به جیره جوجه‌های گوشتی تحت تنش سرمایی از هفته ۵ تا ۸ با دمای ۵/۵ تا ۱۵/۵ درجه سانتی‌گراد گزارش کردند که افزودن SECB به غذا باعث افزایش روشنی، قرمزی و زردی گوشت سینه شد و ظرفیت نگهداری آب گوشت سینه را بهبود بخشید و اتلاف بعد پخت را کاهش داد (Yang et al., 2019) و مکمل پروبیوتیک موجب کاهش میزان pH عضله‌ی ران در جوجه‌های گوشتی شد (Mahajan et al., 2000). در مقابل، ایوانوویچ و همکاران (Aksu et al., 2005; Ivanovic et al., 2012) گزارش کردند که تغذیه پروبیوتیک در جوجه‌های گوشتی موجب افزایش معنی‌دار pH گوشت نسبت به گروه شاهد شد. گزارش شده است که پروبیوتیک‌ها قادر به مهار مالون‌دی‌آلدئید هستند و در نتیجه، نقش حفاظتی بر اکسیداسیون چربی دارند و موجب کاهش تولید مالون‌دی‌آلدئید می‌شوند (Lin & Ivanovic et al., 2012; Yen, 1999). آکسو و همکاران (Aksu et al., 2005) تأثیر پروبیوتیک را بر کیفیت گوشت ران بررسی کردند و بیان نمودند که در اثر استفاده از پروبیوتیک مقدار TBARS تولید شده در گوشت ران کاهش می‌یابد. همچنین، باکتری‌های پروبیوتیکی موجود در روده (*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدیوباکتریوم‌ها*) موجب مهار تولید رادیکال‌های آزاد می‌شوند (Lin & Chang, 2000). آهن موجب افزایش روند اکسیداسیون چربی می‌شود و پروبیوتیک‌ها آهن را کیلات می‌کنند (KOT et al., 1995) که احتمالاً یکی از سازوکارهای آنتی‌اکسیدان بودن پروبیوتیک‌ها به همین دلیل است. از طرف دیگر، گزارش شده است که در اثر استفاده از پروبیوتیک‌ها در جیره، انباشت چربی بدنی در بلدرچین کاهش می‌یابد (Homma & Shinohara, 2004). این دو مورد احتمالاً توجیه کارآمدی پروبیوتیک ها در کاهش اکسیداسیون چربی‌ها است.

1- Dark, firm, and dry

جدول ٦- اثر تیمارهای آزمایشی بر کیفیت گوشت سینه جوجه‌های گوشتی

Table 6- Effect of experimental treatments on breast meat quality of broiler chickens

خصوصیات Specification	تیمارهای آزمایشی[۱] Experimental treatments[1]							SEM	P-value[2]	
	1	2	3	4	5	6	7		1	2
ماده خشک (درصد) Dry matter (%)	26.8	27.9	26.9	28.4	28.9	27.8	28.4	0.47	0.73	0.21
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	22.3	22.8	23.3	24.3	24.7	23.1	24.2	0.58	0.51	0.09
مالون دی‌آلدهید (میکرومول/گرم) MDA (µmol/g)	0.106[c]	1.50[b]	1.84[ab]	1.90[ab]	1.63[b]	1.98[ab]	2.19[a]	0.167	0.001	0.03
ظرفیت نگهداری آب (درصد) Water holding capacity (%)	13.8	12.7	14.1	16.8	15.1	9.57	12.1	1.65	0.121	0.66
اتلاف ناشی از تراوش (درصد) Drip loss (%)	9.6	11.9	12.3	12.4	12.9	13.2	12.6	1.2	0.24	0.4
اتلاف آب ناشی از پخت و پز (درصد) Cooking loss (%)	14.3	14.8	15.2	18.8	17.0	12.2	14.0	1.8	0.113	0.75

[۱] ۱- جیره پایه (شاهد مثبت- پرورش در دمای توصیه شده سویه راس)، ۲- جیره پایه (شاهد منفی- پرورش در شرایط تنش سرمایی)، ۳- شاهد منفی + ۰/۵ درصد بیوچار، ۴- شاهد منفی + ۰/۷۵ درصد بیوچار، ۵- شاهد منفی + ۱ درصد بیوچار، ۶- شاهد منفی + پروبیوتیک (۲۰۰ گرم در تن)، ۷- شاهد منفی + زئولیت (یک کیلوگرم در تن).

[۲] ۱- P-value مقایسات میانگین کل تیمارها و ۲- P-value مقایسه گروهی بین تیمار ۲ با تیمارهای ۳-۷.

[1] 1- Basal ration (positive control- rearing in recommended temperature of Ross strain), 2) negative control (fed basal diet and rearing in cold stress), 3) negative control + %0.5 solid waste biochar, 4) negative control + %0.75 solid waste biochar, 5) negative control + 1% solid waste biochar, 6) negative control + probiotic Ecobacto-P (200 g/ton), 7) negative control + 1 kg /ton zeolite.

[2] 1- P-value of total analysis and 2- P-value of contrast analysis between treatment 2 and treatments 3-7.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی، تنش سرمایی منجر بـه کـاهش عملکـرد و تضـعیف پاسخ ایمنی و کیفیت گوشت جوجه‌های گوشـتی شـد و بـا توجـه بـه مقایسات گروهی بین گـروه شـاهد پـرورش یافتـه در شـرایط تـنش سرمایی و گروه‌های دریافت‌کننده افزودنی‌هـا، پروبیوتیـک، بیوچـار و زئولیت سـبب کـاهش تلفـات آسـیتی و وزن نسـبی غـده تیمـوس و افزایش وزن بدن در دوره آغازین، pH گوشت ران و سینه و قرمزی و زردی گوشت ران جوجه‌های گوشتی شدند، امّا قادر به بهبود عملکـرد جوجه‌های گوشتی در کل دوره، کیفیت گوشـت سـینه و ران، غلظـت متابولیت‌ها و شمار سلول‌های خونی نشدند و در شرایط ایـن آزمـایش نتوانستند اثرات منفی تنش سرمایی جبران کنند. بنـابراین، اسـتفاده از این افزودنی‌ها در شـرایط تـنش سـرمایی بـه‌منظـور بهبـود عملکـرد جوجه‌های گوشتی قابل توصیه نمی‌باشد و با توجه به این که پژوهش حاضر، اولین تحقیق در زمینه تأثیر بیوچـار در زمینـه تـنش سـرمایی می‌باشد، تا حصول نتیجه قطعی و دقیق‌تر نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه می‌باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان و محققین این پژوهش از مدیریت بازیافت شـهرداری ایلام و مـدیریت پـژوهش دانشـگاه ایـلام بابـت تـأمین هزینـه‌هـا و آزمایش‌های این پژوهش تشکر و قدردانی می‌نمایند.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

References

1. Adjei, A. A., Matsumoto, Y., Oku, T., Hiroi, Y., & Yamamoto, S. (1994). Dietary agrinine and glutamine combination improves survival in septic mice. *Nutrition Research*, *14*(10), 1591-1599.
2. Adzitey, F., & Nurul, H. (2011). Pale soft exudative (PSE) and dark firm dry (DFD) meats: causes and measures to reduce these incidences-a mini review. *International Food Research Journal*, *18*(1).
3. Aksu, M. I., Karaoğlu, M., Esenbuğa, N., Kaya, M., Macit, M., & Ockerman, H. W. (2005). Effect of a dietary

probiotic on some quality characteristics of raw broiler drumsticks and breast meat. *Journal of Muscle Foods*, *16*(4), 306-317. https://doi.org/10.1111/j.1745-4573.2005.00023.x
4. Amoah, K., Dong, X.-h., Tan, B.-p., Zhang, S., Kuebutornye, F. K., Chi, S.-y., Yang, Q.-h., Liu, H.-y., Zhang, H.-t., & Yang, Y.-z. (2021). In vitro assessment of the safety and potential probiotic characteristics of three Bacillus strains isolated from the intestine of hybrid grouper (Epinephelus fuscoguttatus♀× Epinephelus lanceolatus♂). *Frontiers in Veterinary Science*, 426. https://doi.org/10.3389/fvets.2021.675962
5. ARDCorp, B. (2014). Investigating Benefits of Supplementing Broiler Feed with Broiler Litter Biochar.
6. Azargohar, R., & Dalai, A. (2006). Biochar as a precursor of activated carbon. Twenty-seventh symposium on biotechnology for fuels and chemicals. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-268-7_62
7. Barbut, S., Zhang, L., & Marcone, M. (2005). Effects of pale, normal, and dark chicken breast meat on microstructure, extractable proteins, and cooking of marinated fillets. *Poultry Science*, *84*(5), 797-802. https://doi.org/10.1093/ps/84.5.797
8. Biesek, J., Kuźniacka, J., Banaszak, M., Maiorano, G., Grabowicz, M., & Adamski, M. (2020). The effect of various protein sources in goose diets on meat quality, fatty acid composition, and cholesterol and collagen content in breast muscles. *Poultry Science*, *99*(11), 6278-6286. https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.08.074
9. Blahova, J., Dobšíková, R., Strakova, E., & Suchý, P. (2007). Effect of low environmental temperature on performance and blood system in broiler chickens (Gallus domesticus). *Acta Veterinaria Brno*, *76*(8), 17-23. https://doi.org/10.2754/avb200776S8S017
10. Cheema, M., Qureshi, M., & Havenstein, G. (2003). A comparison of the immune response of a 2001 commercial broiler with a 1957 randombred broiler strain when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. *Poultry Science*, *82*(10), 1519-1529.
11. Cheron, B. M. (2017). Evaluation of Biochar as a Feed Additive in Commercial Broiler Diets.
12. Dabbert, C., Lochmiller, R. L., & Teeter, R. G. (1997). Effects of acute thermal stress on the immune system of the Northern Bobwhite (Colinus virginianus). *The Auk*, *114*(1), 103-109. https://doi.org/10.2307/4089069
13. Dadgar, S., Lee, E., Leer, T., Crowe, T., Classen, H., & Shand, P. (2011). Effect of acute cold exposure, age, sex, and lairage on broiler breast meat quality. *Poultry Science*, *90*(2), 444-457. https://doi.org/10.3382/ps.2010-00840
14. Dim, C., Akuru, E., Egom, M., Nnajiofor, N., Ossai, O., Ukaigwe, C., & Onyimonyi, A. (2018). Effect of dietary inclusion of biochar on growth performance, haematology and serum lipid profile of broiler birds. *Agro-Science*, *17*(2), 9-17.
15. Evans, A., Boney, J., & Moritz, J. (2017). The effect of poultry litter biochar on pellet quality, one to 21 d broiler performance, digesta viscosity, bone mineralization, and apparent ileal amino acid digestibility. *Journal of Applied Poultry Research*, *26*(1), 89-98. https://doi.org/10.3382/japr/pfw049
16. Farhadi, D., Shariatmadari, F., & Karimi Torshiz, A. (2013). The Effect of Litter Chemical Additives on Performance, Immune System and Incidence of Ascites Syndrome in Broiler Chickens. *Research On Animal Production (Scientific and Research)*, *3*(6), 1-14 (In persian).
17. Ferket, P. R., & Gernat, A. G. (2006). Factors that affect feed intake of meat birds: A review. *International Journal of Poultry Science*, *5*(10), 905-911.
18. Gerlach, H., & Schmidt, H.-P. (2012). Biochar in poultry farming. *Ithaka Journal*, *2012*(1), 262-264p.
19. Haman, F., Péronnet, F., Kenny, G. P., Massicotte, D., Lavoie, C., & Weber, J. M. (2005). Partitioning oxidative fuels during cold exposure in humans: muscle glycogen becomes dominant as shivering intensifies. *The Journal of Physiology*, *566*(1), 247-256. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.086272
20. Hangalapura, B. (2006). *Cold stress and immunity: do chickens adapt to cold by trading-off immunity for thermoregulation?* Wageningen University and Research.
21. Hangalapura, B. N., Kaiser, M. G., van der Poel, J. J., Parmentier, H. K., & Lamont, S. J. (2006). Cold stress equally enhances in vivo pro-inflammatory cytokine gene expression in chicken lines divergently selected for antibody responses. *Developmental & Comparative Immunology*, *30*(5), 503-511. https://doi.org/10.1016/j.dci.2005.07.001
22. Hester, P. Y., Muir, W., Craig, J., & Albright, J. (1996). Group selection for adaptation to multiple-hen cages: production traits during heat and cold exposures. *Poultry Science*, *75*(11), 1308-1314. https://doi.org/10.3382/ps.0751308
23. Homma, H., & Shinohara, T. (2004). Effects of probiotic Bacillus cereus toyoi on abdominal fat accumulation in the Japanese quail (Coturnix japonica). *Animal Science Journal*, *75*(1), 37-41. https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2004.00152.x
24. Huff, G., Huff, W., Rath, N., de Los Santos, F. S., Farnell, M., & Donoghue, A. (2007). Influence of hen age on the response of turkey poults to cold stress, Escherichia coli challenge, and treatment with a yeast extract antibiotic alternative. *Poultry Science*, *86*(4), 636-642. https://doi.org/10.1093/ps/86.4.636
25. Huff, G., Huff, W., Rath, N., El-Gohary, F., Zhou, Z., & Shini, S. (2015). Efficacy of a novel prebiotic and a commercial probiotic in reducing mortality and production losses due to cold stress and Escherichia coli challenge of broiler chicks. *Poultry Science*, *94*(5), 918-926. https://doi.org/10.3382/ps/pev068

26. Ivanovic, S., Pisinov, B., Maslic-Strizak, D., Savic, B., & Stojanovic, Z. (2012). Influence of probiotics on quality of chicken meat. *African Journal of Agricultural Research*, *7*(14), 2191-2196.
27. Joseph, S. D., Camps-Arbestain, M., Lin, Y., Munroe, P., Chia, C., Hook, J., Van Zwieten, L., Kimber, S., Cowie, A., & Singh, B. (2010). An investigation into the reactions of biochar in soil. *Soil Research*, *48*(7), 501-515. https://doi.org/10.1071/SR10009
28. Kim, H.-S., Kim, K.-R., Kim, H.-J., Yoon, J.-H., Yang, J. E., Ok, Y. S., Owens, G., & Kim, K.-H. (2015). Effect of biochar on heavy metal immobilization and uptake by lettuce (Lactuca sativa L.) in agricultural soil. *Environmental Earth Sciences*, *74*(2), 1249-1259. https://doi.org/10.1007/s12665-015-4116-1
29. KOT, E., Furmanov, S., & Bezkorovainy, A. (1995). Accumulation of iron in lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Journal of Food Science*, 60(3), 547-550. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1995.tb09823.x
30. Lehmann, J., Rillig, M. C., Thies, J., Masiello, C. A., Hockaday, W. C., & Crowley, D. (2011). Biochar effects on soil biota–a review. *Soil Biology and Biochemistry*, *43*(9), 1812-1836. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.04.022
31. Leishman, E. M., Ellis, J., van Staaveren, N., Barbut, S., Vanderhout, R. J., Osborne, V. R., Wood, B. J., Harlander-Matauschek, A., & Baes, C. F. (2021). Meta-analysis to predict the effects of temperature stress on meat quality of poultry. *Poultry Science*, *100*(11), 101471. https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101471
32. Lin, M. Y., & Chang, F. J. (2000). Antioxidative effect of intestinal bacteria Bifidobacterium longum ATCC 15708 and Lactobacillus acidophilus ATCC 4356. *Digestive Diseases and Sciences*, *45*(8), 1617-1622. https://doi.org/10.1023/A:1005577330695
33. Lin, M. Y., & Yen, C. L. (1999). Inhibition of lipid peroxidation by Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium longum. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *47*(9), 3661-3664. https://doi.org/10.1021/jf981235l
34. Lotfollahian, H., Shariatmadari, F., Shivazad, M., & Mirhadi, S. (2004). Study on the effects of two kinds of natural zeolite in diets on blood biochemical parameters, relative weight of body organs and broilers performance. *Pazhoohesh and sazandegi*, *3*(17), 18-34 (in persian).
35. Mabe, L. T., Su, S., Tang, D., Zhu, W., Wang, S., & Dong, Z. (2018). The effect of dietary bamboo charcoal supplementation on growth and serum biochemical parameters of juvenile common carp (Cyprinus carpio L.). *Aquaculture Research*, *49*(3), 1142-1152. https://doi.org/10.1111/are.13564
36. Mahajan, P., Sahoo, J., & Panda, P. (2000). Effect of probiotic (Lacto-Sacc) feeding, packaging methods and seasons on the microbial and organoleptic qualities of chicken meat balls during refrigerated storage. *Journal of Food Science and Technology (Mysore)*, *37*(1), 67-71.
37. Man, K. Y., Chow, K. L., Man, Y. B., Mo, W. Y., & Wong, M. H. (2021). Use of biochar as feed supplements for animal farming. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, *51*(2), 187-217. https://doi.org/10.1080/10643389.2020.1721980
38. Meier, S., Borie, F., Bolan, N., & Cornejo, P. (2012). Phytoremediation of metal-polluted soils by arbuscular mycorrhizal fungi. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, *42*(7), 741-775. https://doi.org/10.1080/10643389.2010.528518
39. Montalto, M., Maggiano, N., Ricci, R., Curigliano, V., Santoro, L., Di Nicuolo, F., Vecchio, F. M., Gasbarrini, A., & Gasbarrini, G. (2004). Lactobacillus acidophilus protects tight junctions from aspirin damage in HT-29 cells. *Digestion*, *69*(4), 225-228. https://doi.org/10.1159/000079152
40. Nawaz, A. H., Amoah, K., Leng, Q. Y., Zheng, J. H., Zhang, W. L., & Zhang, L. (2021). Poultry response to heat stress: its physiological, metabolic, and genetic implications on meat production and quality including strategies to improve broiler production in a warming world. *Frontiers in Veterinary Science*, 814. https://doi.org/10.3389/fvets.2021.699081
41. Nazifi, S. (1997). Hematological and Clinical Biochemistry of Birds. Shiraz University Press. 276 (In persian).
42. Ohno, A., Ano, T., & Shoda, M. (1995). Effect of temperature on production of lipopeptide antibiotics, iturin A and surfactin by a dual producer, Bacillus subtilis RB14, in solid-state fermentation. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, *80*(5), 517-519. https://doi.org/10.1016/0922-338X(96)80930-5
43. Olfati, A., Mojtahedin, A., Sadeghi, T., Akbari, M., & Martínez-Pastor, F. (2018). Comparison of growth performance and immune responses of broiler chicks reared under heat stress, cold stress and thermoneutral conditions. *Spanish Journal of Agricultural Research*, *16*(2), e0505-e0505. https://doi.org/10.5424/sjar/2018162-12753
44. Placer, Z. A., Cushman, L. L., & Johnson, B. C. (1966). Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Analytical Biochemistry*, *16*(2), 359-364. https://doi.org/10.1016/0003-2697(66)90167-9
45. Prvulovic, D., Kojic, D., Grubor-Lajsic, G., & Kosarcic, S. (2008). The effects of dietary inclusion of hydrated aluminosilicate on performance and biochemical parameters of broiler chickens. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, *32*(3), 183-189.
46. Qi, X., Mu, X., Zhang, Z., Yu, J., Zhao, Q., Xu, H., & Gu, W. (2018). Effects of compound probiotics on immune function and mucosal structure of small intestine of broilers under stress. *Chinese Veterinary Science/Zhongguo*

Shouyi Kexue, *48*(10), 1332-1340.
47. Qureshi, S., Khan, H. M., Mir, M. S., Raja, T., Khan, A., Ali, H., & Adil, S. (2018). ffect of cold stress and various suitable remedies on performance of broiler chicken. *The Journal of World's Poultry Research*, *8*(3), 66-73.
48. Rajapaksha, A. U., Ahmad, M., Vithanage, M., Kim, K.-R., Chang, J. Y., Lee, S. S., & Ok, Y. S. (2015). The role of biochar, natural iron oxides, and nanomaterials as soil amendments for immobilizing metals in shooting range soil. *Environmental Geochemistry and Health*, *37*(6), 931-942. https://doi.org/10.1007/s10653-015-9694-z
49. Ranjbar, A., khatibjoo, A., & Karimi, K. (2013). Effect of Probiotic on Performance, Humoral Immunity, Gut Development and Ascites Incidence of Broiler Chickens Reared at Cold Environment. MSc thesis. University of Islamic Azad of Varamin, Iran (In Persian).
50. Rashidi, N., Khatibjoo, A., Taherpour, K., Akbari-Gharaei, M., & Shirzadi, H. (2020). Effects of licorice extract, probiotic, toxin binder and poultry litter biochar on performance, immune function, blood indices and liver histopathology of broilers exposed to aflatoxin-B1. *Poultry Science*, *99*(11), 5896-5906. https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.08.034
51. Regnier, J., & Kelley, K. (1981). Heat-and cold-stress suppresses in vivo and in vitro cellular immune responses of chickens. *American Journal of Veterinary Research*, *42*(2), 294-299.
52. Safaeikatouli, M., Jafariahangari, Y., & Baharlouei, A. (2010). Effects of dietary inclusion of sodium bentonite on biochemical characteristics of blood serum in broiler chickens. *International Journal of Agriculture and Biology*, *12*(6), 877-880.
53. Sahin, N., Onderci, M., Sahin, K., & Smith, M. O. (2003). Melatonin supplementation can ameliorate the detrimental effects of heat stress on performance and carcass traits of Japanese quail. *Biological Trace Element Research*, *96*(1), 169-177. https://doi.org/10.1385/BTER:96:1-3:169
54. Salma, U., Miah, A., Maki, T., Nishimura, M., & Tsujii, H. (2007). Effect of dietary Rhodobacter capsulatus on cholesterol concentration and fatty acid composition in broiler meat. *Poultry Science*, *86*(9), 1920-1926. https://doi.org/10.1093/ps/86.9.1920
55. Sanchez-Monedero, M., Cayuela, M. L., Roig, A., Jindo, K., Mondini, C., & Bolan, N. (2018). Role of biochar as an additive in organic waste composting. *Bioresource Technology*, *247*, 1155-1164. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.193
56. Saroeun, K., Preston, T., & Leng, R. (2018). Rice distillers' byproduct and molasses-urea blocks containing biochar improved the growth performance of local Yellow cattle fed ensiled cassava roots, cassava foliage and rice straw. *Bone*, *3*(3), 3.
57. SAS, I. (2004). SAS/WATTM User's Guide. SAS Institute, Inc., Cary NC.
58. Siegel, H. (1995). Stress, strains and resistance. *British Poultry Science*, *36*(1): 3-22. https://doi.org/10.1080/00071669508417748
59. Traffano-Schiffo, M. V., Chuquizuta, T., Castro-Giraldez, M., & Fito, P. J. (2021). Development of a methodology to categorize poultry meat affected by deep pectoral myopathy. *Journal of Food Processing and Preservation*, *45*(3), e15226. https://doi.org/10.1111/jfpp.15226
60. Varmaghany, S., Torshizi, M. A. K., Rahimi, S., Lotfollahian, H., & Hassanzadeh, M. (2015). The effects of increasing levels of dietary garlic bulb on growth performance, systolic blood pressure, hematology, and ascites syndrome in broiler chickens. *Poultry science*, *94*(8), 1812-1820.
61. Winders, T. M., Jolly-Breithaupt, M., Freeman, C., Mark, B., Erickson, G., & Watson, A. (2018). Evaluating the Effect of Feeding Biochar to Cattle on Methane Production and Diet Digestibility. 10th International Livestock Environment Symposium (ILES X),
62. Xu, S., Lin, Y., Zeng, D., Zhou, M., Zeng, Y., Wang, H., Zhou, Y., Zhu, H., Pan, K., & Jing, B. (2018). Bacillus licheniformis normalize the ileum microbiota of chickens infected with necrotic enteritis. *Scientific Reports*, *8*(1), 1-10. https://doi.org/10.1038/s41598-018-20059-z
63. Yang, J., Zhang, M., & Zhou, Y. (2019). Effects of selenium-enriched Bacillus sp. compounds on growth performance, antioxidant status, and lipid parameters breast meat quality of Chinese Huainan partridge chicks in winter cold stress. *Lipids in Health and Disease*, *18*(1), 1-10. https://doi.org/10.1186/s12944-019-1015-6
64. Zhou, H., Kong, L., Zhu, L., Hu, X., Busye, J., & Song, Z. (2021). Effects of cold stress on growth performance, serum biochemistry, intestinal barrier molecules, and adenosine monophosphate-activated protein kinase in broilers. *Animal*, *15*(3), 100138. https://doi.org/10.1016/j.animal.2020.100138
65. Zhuang, H., Rothrock Jr, M. J., Line, J. E., Lawrence, K. C., Gamble, G. R., Bowker, B. C., & Keener, K. M. (2020). Optimization of in-package cold plasma treatment conditions for raw chicken breast meat with response surface methodology. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *66*, 102477. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102477